

РЕЦЕНЗИЈА

НА ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА СО НАСЛОВ „СИНТЕЗА, ФИЗИЧКО-ХЕМИСКА КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И СТУДИЈА ЗА СТАБИЛНОСТ НА ЛИОФИЛИЗИРАНИ ИМУНОКОНЈУГАТИ НА ДАРАТУМУМАБ – РАДИОФАРМАЦЕВТСКИ ПРЕПАРАТИ ЗА ЦЕЛНА ТЕРАПИЈА“, ПРИЈАВЕНА НА ФАКУЛТЕТ ЗА МЕДИЦИНСКИ НАУКИ, УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ – ШТИП

Со Одлука број 0206-486/2 од 10.7.2026 година, донесена на 116. седница на Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 3 – Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ во Штип, формирана е Комисија за оценка и одбрана на докторската дисертација со наслов „Синтеза, физичко-хемиска карактеризација и студија за стабилност на лиофилизирани имуноконјугати на даратумумаб – радиофармацевтски препарати за целна терапија“ и на англиски јазик „*Synthesis, physico-chemical characterization and stability study of freeze-dried Daratumumab immunoconjugates - radiopharmaceuticals for targeted therapy*“, пријавена и изработена од кандидатката м-р Паулина Апостолова, во состав:

- проф. д-р Зорица Арсова-Сарафиновска, претседател;
- проф. д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска - интерен ментор, член;
- научен советник д-р Сања Врањеш-Ѓуриќ - екстерен ментор, член;
- проф. д-р Елена Дракалска-Серсемова – член;
- научен советник д-р Жан-Франсуа Жестен – член.

Комисијата во наведениот состав го разгледа доставениот материјал и го поднесува следниов

ИЗВЕШТАЈ

Анализа на трудот

Докторската дисертација која е пријавена и изработена од кандидатката м-р Паулина Апостолова претставува оригинален труд, кој согласно со програмата на третиот циклус на студии на студиската програма Фармацевтски науки е напишана на 207 страници, А4 формат, со вкупно 29 табели, 69 слики, 141 литературни цитати.

Трудот е структуриран во следните поглавја: Краток извадок на македонски и на англиски јазик, Вовед, Преглед на литература, Цели на истражувањето, Материјали и методи, Резултати, Дискусија, Заклучок и Користена литература.

Докторската дисертација е логично конципирана, методолошки добро организирана и претставува заокружена научна целина во која сите поглавја се меѓусебно поврзани. Кандидатката јасно ги дефинира научниот проблем, поставените цели и истражувачката хипотеза, а избраната методологија овозможува нивна систематска проверка преку современи аналитички и фармацевтско-технолошки пристапи.

Особена вредност на дисертацијата претставува нејзиниот интердисциплинарен карактер, преку кој се интегрираат сознанија од фармацевтска хемија, радиофармацијата, фармацевтската технологија,

бионокјугацијата, фармацевтски анализи, контролата на квалитет и студиите на стабилност, со крајна цел развој на современ терапевтски радиоимуноконјугат.

Во понатамошниот тек од овој извештај е даден краток осврт за секое поглавје од докторската дисертација.

Во **воведниот дел** кандидатката систематски ја разработува теоретската основа на истражувањето, започнувајќи од современите концепти на таргетираната радионуклидна терапија, улогата на моноклоналните антитела како високоспецифични вектори на радионуклиди и значењето на радиоимуноконјугатите во персонализираниот третман на малигните заболувања.

Посебно внимание е посветено на моноклоналното антитело даратумумаб како терапевтски вектор насочен кон CD38 рецепторот, како и на современите стратегии за негова модификација со различни бифункционални хелатори. Кандидатката критички ги анализира литературните податоци поврзани со конјугацијата на антителата, влијанието на степенот на конјугација врз нивната биолошка активност, изборот на радионуклиди за терапевтска примена, како и значењето на лиофилизацијата како фармацевтско-технолошка постапка за обезбедување стабилност на биолошките лекови.

Во второто поглавје, насловено како **Преглед на литература**, м-р Паулина Апостолова успева преку еден континуитет во презентирање на податоци од литературата да ги објасни не само постојните сознанија, туку обезбедува критичка анализа на современите пристапи, јасно идентификувајќи ги ограничувањата на постојните технологии и научната оправданост за реализација на предметното истражување.

Најголемиот број на трудови обработени во ова поглавје од дисертацијата се со понов датум што оди во прилог на актуелноста на проблематиката, како и во поткрепа и дефинирање на предметот на истражувањето.

По обемниот и детален литературен преглед следува делот во кој кандидатката прецизно ги дефинира и претставува **Целите на истражувањето**, кои се јасно дефинирани и целосно усогласени со современите трендови во развојот на терапевтските радиофармацевтици.

Главната цел е развој на стабилна лиофилизирана формулација базирана на имуноконјугатот даратумумаб-*p*-SCN-Bn-DOTA, погодна за подготовка на терапевтски радиоимуноконјугати со потенцијална примена во терапијата на мултипен миелом. Дополнително, целта е насочена кон можноста оваа лиофилизирана формулација да се користи и за радиоактивно обележување со други терапевтски радиометали, како што се ^{161}Tb и ^{225}Ac .

За постигнување на главната цел, истражувањето беше структурирано во неколку меѓусебно поврзани сегменти:

- да се добијат имуноконјугати базирани на моноклоналното антитело даратумумаб со различни бифункционални хелатори, да се оптимизираат условите за конјугација и да се изврши нивна евалуација;
- да се развијат лиофилизирани формулации на имуноконјугатот преку евалуација на различни ексципиенси;
- да се изврши карактеризација на добиените лиофилизирани формулации преку определување на физичко-хемиските карактеристики и профилот на чистота;
- да се развие и оптимизира постапка за радиообележување со ^{177}Lu на најсоодветната лиофилизирана формулација со најповолни карактеристики, како и проценка на квалитетот на добиениот радиофармацевтик;

- да се испита и стабилноста на лиофилизирана формулација преку забрзани, долготрајни и предиктивни студии на стабилност, со цел дефинирање на рокот на употреба.

Покрај главната цел, во дисертацијата беше вклучен и посебен, независен *proof-of-concept* истражувачки сегмент, насочен кон почетна проценка на можноста за развој на имуноконјугат базиран на друго моноклонално антитело, 9E7.4, со примена на различен хемиски пристап за конјугација со соодветна простетична група. Овој дел претставува сосема нов пристап и основа за понатамошен развој на ^{211}At обележани радиоимуноконјугати и претставува нова истражувачка платформа во областа на таргетираната алфа-терапија на мултипен миелом.

Поставените цели се научно оправдани, добро структурирани и целосно реализирани во текот на истражувањето.

Реализацијата на предвидените цели, од страна на кандидатката м-р Паулина Апостолова детално е презентирана и објаснета во поглавјето **Материјали на истражувачка работа**, презентирајќи ја истовремено и методологијата на работењето, како и начинот на обработка на добиените резултати. Во ова поглавје кандидатката користи современ експериментален пристап кој ги интегрира принципите на фармацевтската хемија, современите фармацевтски анализи и радиофармацијата.

Избраните аналитички техники (MALDI-TOF MS, DSC, UV/Vis, ATR-FTIR, Raman спектроскопија, SE-HPLC, SDS-PAGE и радио-SE-HPLC) овозможуваат детална физичко-хемиска карактеризација на добиените имуноконјугати и нивна проценка од аспект на структурен интегритет, чистота и стабилност.

Особено значајно е што кандидатката не се ограничува само на оптимизација на една формулација, туку систематски споредува повеќе бифункционални хелатори, различни услови на конјугација и различни терапевтски радионуклиди, што значително ја зголемува научната вредност и практичната применливост на истражувањето.

Дополнителна научна вредност претставува воведувањето на ASAP пристапот за предиктивна проценка на стабилноста, кој сè почесто се применува во современиот развој на биофармацевтски производи.

Во поглавјето **Резултати** кандидатката систематски и логично ги презентира добиените експериментални резултати, следејќи ја структурата на поставените цели на истражувањето и применетата методологија. Резултатите прикажани преку слики и табели, овозможуваат јасна визуализација, споредба и критичка интерпретација. Применетиот начин на презентација обезбедува лесно следење на развојот на истражувањето, од иницијалната конјугација на антителото, преку оптимизацијата на лиофилизираната формулација, до финалната евалуација на радиоимуноконјугатите и нивната стабилност.

Во првиот дел од истражувањето кандидатот врши детална споредбена анализа на три различни бифункционални хелатори, со цел избор на најсоодветен имуноконјугат за понатамошен развој. Посебно внимание е посветено на влијанието на моларниот вишок на хелаторот врз степенот на конјугација, структурниот интегритет на антителото и неговата способност за успешно радиоактивно обележување. Ваквиот пристап овозможува

научно аргументиран избор на оптималниот имуноконјугат и претставува значајна основа за понатамошниот развој на стабилна радиофармацевтска формулација.

Значајна вредност на дисертацијата претставува развојот на лиофилизирана формулација на избраниот имуноконјугат. Кандидатката систематски ги анализира критичните параметри на процесот на лиофилизација, вклучувајќи го изборот на помошни супстанции, составот на формулацијата, условите на замрзнување и сушење, како и нивното влијание врз финалниот квалитет на препаратот. Добиените резултати покажуваат дека оптимизираната формулација обезбедува прифатлив изглед на лиофилизираниот колач, кратко време на реконституција, ниска содржина на резидуална влага и стабилна pH-вредност, што претставува неопходен предуслов за практична примена на ваков тип радиофармацевтски препарати. Особено внимание заслужува обемната физичко-хемиска карактеризација на добиените имуноконјугати. Со комбинирана примена на MALDI-TOF масена спектрометрија, UV/Vis спектроскопија, ATR-FTIR, Раманска спектроскопија, SE-HPLC и SDS-PAGE, кандидатката врши повеќеслојна анализа на структурата, чистотата и интегритетот на препаратот. Примената на повеќе комплементарни аналитички техники значително ја зголемува сигурноста на добиените резултати и овозможува целосна проценка на влијанието на процесите на конјугација и лиофилизација врз својствата на имуноконјугатот.

Радиоохемскиот дел од истражувањето претставува едно од најзначајните поглавја на докторската дисертација. Преку систематска оптимизација на условите за радиобележување, кандидатката покажува дека избраниот лиофилизиран имуноконјугат овозможува добивање на радиоимуноконјугат со ^{177}Lu со висок принос по обележување и висока радиоохемиска чистота, без потреба од дополнително прочистување. Овој резултат има значајна практична вредност, бидејќи ја поедноставува подготовката на препаратот, го намалува времето на манипулација и потенцијално ја намалува изложеноста на персоналот на јонизирачко зрачење. Дополнително, кандидатката успешно ја демонстрира и радиоактивно обележување со терапевтските радионуклиди ^{161}Tb и ^{225}Ac . Со ова се покажува дека развиената формулација не е ограничена само на еден радиометал, туку претставува флексибилна платформа за подготовка на различни терапевтски радиоимуноконјугати. Ваквиот концепт има особено значење во контекст на современата персонализирана радионуклидна терапија, каде изборот на радионуклидот може да се приспособи на биолошките карактеристики на заболувањето и терапевтските цели.

Особена научна вредност имаат резултатите од студиите на стабилност преку воведување на современ предиктивен ASAP софтверски пристап за проценка на стабилноста, како надополнување на конвенционалната проценка на стабилноста и претставува корисна алатка за развој на ваков тип биофармацевтски препарати.

Во вториот експериментален дел кандидатката ги проширува истражувањата кон алфа-емитерот ^{211}At . Иако добиените резултати претставуваат почетна фаза од развојот на радиоимуноконјугати со астатин-211, тие ја демонстрираат сложеноста на радиоохемијата на овој радионуклид и потребата од примена на поинакви стратегии за конјугација

во споредба со радиометалите. Со тоа дисертацијата не се ограничува само на решавање на конкретен истражувачки проблем, туку отвора нови научни насоки за идни истражувања во областа на таргетираната алфа-терапија.

Во поглавјето **Дискусија**, докторантката м-р Апостолова покажува способност за критичка анализа и научна интерпретација на добиените резултати. Истите се споредуваат со современите литературни сознанија и се анализира нивната усогласеност или разлики во однос на претходно објавените истражувања. Особено е значајно што дискусијата не се сведува само на потврдување на сопствените резултати, туку ги анализира и ограничувањата на применетите пристапи, како и можностите за нивно понатамошно унапредување. На тој начин, кандидатката покажува зрел научен пристап и способност критички да ги согледува сопствените истражувања во контекст на современите достигнувања во радиофармацијата.

Во поглавјето **Заклучок** кандидатката јасно, концизно и систематски ги сумира најзначајните научни сознанија произлезени од истражувањето. Донесените заклучоци логично произлегуваат од добиените резултати и претставуваат директен одговор на поставените цели на докторската дисертација.

Презентираните заклучоци не само што ја потврдуваат успешната реализација на поставените цели, туку ја нагласуваат и научната зрелост на истражувањето, неговата оригиналност и потенцијалната клиничка применливост. Истовремено, кандидатката реално ги согледува ограничувањата на истражувањето и предлага јасни насоки за идни претклинички и клинички испитувања, што претставува дополнителен квалитет на докторската дисертација.

Научен придонес

Докторската дисертација претставува оригинален научен придонес во областа на фармацевтска хемија, радиофармација и современите фармацевтски анализи, бидејќи за првпат воспоставува комплетен фармацевтско-хемиски и технолошки пристап за развој на лиофилизирана формулација на имуноконјугат базиран на антители, даратумумаб, погодна за подготовка на терапевтски радиоимуноконјугати. Научниот придонес на истражувањето се согледува во интегрирањето на процесите на избор и оптимизација на бифункционален хелатор, развој на лиофилизирана фармацевтска формулација, физичко-хемиска карактеризација, радиохемиска евалуација и проценка на стабилноста во единствен научно заснован развоен процес. Особено значајно е што кандидатката не ја разгледува формулацијата исклучиво за радиоактивно обележување со еден терапевтски радионуклид, туку ја демонстрира нејзината применливост за повеќе терапевтски радиометали, отворајќи можност за развој на универзална платформа за подготовка на различни радиоимуноконјугати, вклучувајќи еден пионерски пристап во воведувањето на алфа терапијата преку радионуклидот астатин-211.

Дополнителен научен придонес претставува воведувањето на предиктивниот ASAP пристап како дополнување на класичните студии на стабилност, што претставува современ концепт за развојот на биофармацевтски производи и ретко е применет во истражувања од овие области.

Апликативен придонес

Апликативната вредност на докторската дисертација е особено изразена, бидејќи развиената лиофилизирана формулација претставува практична основа за подготовка на *ready-to-use* китови за радиоактивно обележување непосредно пред клиничка употреба. Со воспоставување на стабилен, репродукцибилен и технолошки оптимизиран производствен пристап се создава можност за стандардизација на подготовката на терапевтски радиоимуноконјугати, што претставува значајна предност во идната клиничка имплементација. Практичната применливост дополнително се потврдува преку можноста една иста формулација да се користи за радиоактивно обележување со повеќе терапевтски радионуклиди, што може да придонесе кон поголема флексибилност во развојот на персонализирани терапевтски пристапи.

Развиената методологија може да претставува основа и за развој на слични лиофилизирани формулации базирани на други терапевтски моноклонални антитела.

Оригиналноост и значење на истражувањето

Докторската дисертација претставува оригинално и современо научно истражување кое обработува проблематика од исклучително значење за развојот на терапевтските радиофармацевтици и таргетираната радионуклидна терапија. Во време кога радиоимуноконјугатите претставуваат една од најбрзо развојните области во нуклеарната медицина и онкологијата, истражувањето се насочува кон еден од најважните сегменти во нивниот развој – обезбедување стабилна, репродукцибилна и фармацевтски прифатлива лиофилизирана формулација погодна за подготовка на радиоимуноконјугати непосредно пред клиничката примена. Оригиналноста на дисертацијата произлегува пред сè од интегрираниот пристап кој ги поврзува процесите на конјугација, фармацевтско-хемиски и технолошки развој, физичко-хемиска карактеризација, радиохемиска евалуација и проценка на стабилноста во единствена развојна платформа. Ваквиот концепт значително го надминува класичниот пристап на развој на поединечен радиоимуноконјугат и претставува основа за понатамошен развој на различни радиофармацевтски препарати базирани на моноклонални антитела.

Посебно значење има фактот што развиениот лиофилизиран имуноконјугат е евалуиран, не само за радиоактивно обележување со лутетиум-177, туку и со тербиум-161 и актиниум-225, со што се демонстрира неговата потенцијална примена како универзална платформа за различни терапевтски радиометали. Дополнително, преку експерименталните испитувања со астатин-211 кандидатот отвора нова научна перспектива поврзана со развојот на радиоимуноконјугати за таргетирана алфа-терапија, област која претставува еден од најактуелните правци на современата онколошка терапија.

Дополнителна оригиналноост на дисертацијата претставува примената на предиктивната ASAP методологија како дополнување на конвенционалните студии на стабилност. Со тоа кандидатката покажува познавање на современите концепти за развој на биолошки лекови и нивно управување со квалитетот, што претставува значајна научна и методолошка вредност.

Во целина, докторската дисертација претставува оригинален научен труд кој обезбедува нови сознанија и практични решенија во областа на радиофармацијата, создавајќи солидна основа за понатамошен претклинички и клинички развој на радиоимуноконјугати за персонализирана радионуклидна терапија.

Начин на пишување и изнесување на материјата

Докторската дисертација е напишана на јасен, стручен и терминологски прецизен научен јазик, со доследно користење на современата терминологија од областа на радиофармацијата, фармацевтската технологија и аналитичката хемија. Текстот е логично структуриран, а поглавјата се меѓусебно поврзани, овозможувајќи континуирано следење на текот на истражувањето, од дефинирањето на научниот проблем до интерпретацијата на добиените резултати.

Материјата е изложена систематски и аргументирано, при што секој сегмент од истражувањето е поткрепен со соодветни експериментални резултати и релевантни литературни податоци.

Резултатите се презентирани прегледно, преку соодветно избрани табели, графички прикази и спектроскопски анализи, што придонесува за нивна полесна интерпретација и критичка евалуација.

Кандидатката покажува способност за научна синтеза и критичко размислување, при што добиените резултати не се само опишани, туку се анализирани и ставени во контекст на современите литературни сознанија. Дискусијата е научно аргументирана и демонстрира зрело разбирање на комплексноста на развојот на современи биолошки радиофармацевтски препарати.

Конзистентност на деловите во рамките на целината

Докторската дисертација претставува логично заокружена и методолошки конзистентна научна целина. Поставените цели произлегуваат од современите научни сознанија прикажани во воведот и литературниот преглед, а избраната методологија е целосно усогласена со нивната реализација. Резултатите директно одговараат на поставените истражувачки цели и претставуваат основа за научно аргументирана дискусија и донесување на заклучоците. Ваквата поврзаност меѓу поединечните поглавја обезбедува високо ниво на логичка доследност и научна издржаност на трудот.

Особено треба да се нагласи дека кандидатката успешно ги интегрира различните сегменти на истражувањето – од изборот на бифункционален хелатор и развојот на лиофилизирана формулација, преку деталната физичко-хемиска карактеризација, до радиохемиската евалуација и студиите на стабилност. Со тоа дисертацијата претставува комплетен развоен циклус на еден современ радиофармацевтски препарат, што претставува нејзина значајна научна вредност.

Посебна научна перспектива и можности за понатамошен развој има воспоставената платформа која може да се приспособува за различни терапевтски радиометали и различни стратегии на таргетирана радионуклидна терапија, како и за идни истражувања поврзани со таргетираната алфа-терапија и тераностичкиот пристап во персонализираната медицина.

Исполнетост на законските услови за одбрана на докторатот

Кандидатката пред одбраната на докторската дисертација ги објави следните рецензирани научни трудови:

1. **Apostolova, P.**, Gestin, J. F., Vranjes-Djuric, S., Arev, M., & Janevik-Ivanovska, E. (2024). Astatine-211 as an emerging radioisotope for targeted alpha therapy (TAT). *RAD Conference Proceedings*, 8, 53–58. doi:10.21175/RadProc.2024.11. <https://eprints.ugd.edu.mk/id/eprint/35812>
2. **Apostolova, P.**, Atanasova Lazareva, M., Davalieva, K., Arev, M., Karpicarov, D., Makreski, P., Slaveska Spirevska, I., Mitrevska, I., Dimovski, A., Vranješ-Đurić, S., & Janevik-Ivanovska, E. (2026). *Freeze-dried kit formulation and physicochemical assessment of a daratumumab-based radiopharmaceutical*. *Acta Pharmaceutica*, doi: 10.2478/acph-260013. <https://eprints.ugd.edu.mk/id/eprint/38440>

ЗАКЛУЧОК И ПРЕДЛОГ

Комисијата за оценка и одбрана детално ја разгледа докторската дисертација со наслов „Синтеза, физичко-хемиска карактеризација и студија за стабилност на лиофилизирани имуноконјугати на даратумумаб – радиофармацевтски препарати за целна терапија“, на англиски јазик „Synthesis, physico-chemical characterization and stability study of freeze-dried Daratumumab immunoconjugates - radiopharmaceuticals for targeted therapy“, и донесе заклучок дека истата претставува оригинален, самостоен, прецизно дефиниран и јасно оформен научен труд со систематски разработена проблематика и оригинални научни истражувања и резултати, со изразен потенцијал за понатамошен трансляциски развој и клиничка примена во областа на таргетираната радионуклидна терапија.

Докторската дисертација во поглед на содржината, обемот и постигнатото ниво на квалитет на научна работа ги задоволува и исполнува условите потребни за изработка на докторска дисертација.

Врз основа на тоа, Комисијата има чест да му предложи на Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 3 да ја прифати позитивната рецензија на докторската дисертација со наслов „Синтеза, физичко-хемиска карактеризација и студија за стабилност на лиофилизирани имуноконјугати на даратумумаб – радиофармацевтски препарати за целна терапија“, пријавена и изработена од кандидатката м-р Паулина Апостолова и да и одобри јавна одбрана на истата.

РЕЦЕНЗЕНТСКА КОМИСИЈА

Проф. д-р Зорица Арсова-Сарафиновска, с.р. претседател, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“, Штип, РС Македонија

Проф. д-р Емилија Јаневик-Ивановска, с.р. интересен ментор, член, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“, Штип, РС Македонија

Научен советник д-р Сања Врањеш-Ѓуриќ, с.р. екстерен ментор, член, Институтот за нуклеарни науки „Винча“, Универзитет во Белград, Република Србија

Проф. д-р Елена Дракалска-Серсегова, с.р. член, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“, Штип, РС Македонија

Научен советник д-р Жан-Франсуа Жестен /Jean-François Gestin, с.р. член, ИНСЕРМ Универзитет во Нант, Франција